促肾上腺皮质激素释放因子在肉仔鸡食欲调控中的作用

周华金　李和朋　张　辉　王继光　宋志刚*

（山东农业大学动物科技学院/动物医学院，泰安　271018）

摘　要：本试验以活体肉仔鸡为研究对象，以静脉注射方式外源导入促肾上腺皮质激素释放因子（CRF），分析肉仔鸡采食量的变化和下丘脑、肠道中食欲调控相关基因的表达情况，对 CRF 在肉仔鸡食欲调控中的作用进行探究。选取体重相近的 1 日龄雄性爱拔益加（AA）肉仔鸡 20 只，7 日龄时随机分为 2 个组，每组 10 只鸡，单笼单饲。试验组肉仔鸡于 10 日龄 08:00 翅静脉注射 1 000.0 μg/kg BW 的 CRF，对照组同时注射等量的生理盐水。注射 2 h 后，统计采食量，10 日龄 10:00 进行屠宰取样，利用实时荧光定量 PCR（RT-PCR）检测下丘脑、十二指肠、空肠和回肠中食欲相关基因胃饥饿素、促肾上腺皮质激素释放因子受体（*CRFR*）1、*CRFR*2、生长激素促分泌素受体-1α(*GHSR*-1*α*)mRNA 相对表达量。结果表明，与对照组相比，静脉注射 CRF 显著降低了肉仔鸡采食量（P<0.05）；显著提高了肉仔鸡下丘脑中胃饥饿素和 *CRFR*1 mRNA 相对表达量(P<0.05)，而下丘脑中 *CRFR*2 和 *GHSR*-1*α* mRNA 相对表达量无显著变化（P>0.05）；显著提高了肉仔鸡十二指肠、空肠和回肠中 *CRFR*1、*CRFR*2 和 *GHSR*-1*α* mRNA 相对表达量（P<0.05），显著降低了十二指肠胃饥饿素 mRNA 相对表达量（P<0.05），而在空肠和回肠中胃饥饿素 mRNA 相对表达量无显著变化（P>0.05）。由此可见，静脉注射 CRF 能降低肉仔鸡采食量，诱导中枢胃饥饿素的基因表达，下丘脑 *CRFR*1、胃饥饿素以及肠道 *CRFR*1、*CRFR*2、*GHSR*-1*α* 基因表达上调导致的食欲抑制可能是造成采食量下降的原因。

关键词：肉仔鸡；食欲；采食量；CRF；胃饥饿素

中图分类号：S831　　　　　　文献标识码：　　　　　　　文章编号：

应激反应是生理平衡的破坏和恢复过程，这一过程的实现主要依赖于交感神经系统和下丘脑-垂体-肾上腺（hypothalamo-pituitary-adrenal, HPA）轴的激活[1]。促肾上腺皮质激素释放因子（corticotropin-releasing factor，CRF）在脊椎动物中枢神经系统以及胃肠道在内的外周组织中广泛表达，在调节 HPA 轴以及应激和能量相关的稳态中起着重要的生理作用[2]。

收稿日期：2018-05-09

基金项目：国家自然科学基金(31472115)；山东省家禽产业创新团队项目（STAIT-011-08)

作者简介：周华金（1993—），女，山东聊城人，硕士研究生，研究方向为动物营养与饲料科学。E-mail: 1667569088@qq.com

*通信作者：宋志刚，教授，博士生导师，E-mail: naposong@qq.com

应激或环境的改变会导致脊椎动物CRF激活，降低动物采食量和繁殖活动，增加动物的觉醒程度和梳理毛发的行为[3]。研究证明，CRF参与哺乳动物和鱼类的摄食和体重调节[4-5]，外周CRF在应激引发的胃肠动力改变过程中发挥重要作用，外周注射CRF抑制了小鼠胃排空[6]。此外，肠内源性CRF在应激诱导的结肠运动和分泌功能变化的过程中发挥关键作用，在大鼠结肠中敲除*CRF*可防止应激对结肠运动和黏膜分泌功能的影响[7]。

胃饥饿素（ghrelin）是生长激素促分泌素受体（growth hormone secretagogues receptor, GHSR）的内源性配体，由28个氨基酸残基组成，属于脑肠肽家族成员[8]。主要在脊椎动物的胃中产生，但在脑、肠、胰腺、胆囊、肾脏和鳃等组织中也有表达[9-10]。胃饥饿素通过外周或中枢作用的方式提高哺乳动物的采食量和体增重[10]，诱导鳟鱼的觅食行为，加速生长[11]。与哺乳动物和鱼类不同，胃饥饿素在家禽中枢中是一种厌食神经肽，新生雏鸡脑室注射胃饥饿素后产生焦虑样行为，强烈抑制采食量[12]。蛋鸡脑室注射胃饥饿素后采食量和饮水量均下降[13]。利用糖皮质激素受体拮抗剂RU486和CRF受体拮抗剂Astressin研究胃饥饿素诱导肉仔鸡食欲抑制机制，发现外周胃饥饿素通过HPA轴参与肉仔鸡的食欲抑制作用[14]。

考虑到HPA轴受到CRF的调控，外周胃饥饿素通过HPA轴参与食欲的抑制作用，那么胃饥饿素是否是CRF影响食欲的一个分子？针对以上问题，本研究以活体入手，以静脉注射方式外源导入CRF，通过分析下丘脑、肠道中相关基因[胃饥饿素、促肾上腺皮质激素释放因子受体（corticotrophin releasing factor receptors, *CRFR*）1、*CRFR*2、生长激素促分泌素受体-1α(growth hormone secretagogue receptor type 1α, *GHSR*-1*α*)]的表达情况，探讨CRF对肉仔鸡食欲和胃饥饿素的影响，为CRF对肉仔鸡食欲调控作用的研究提供理论依据。

1　材料与方法

1.1　试验材料和试验设计

CRF由迈拓（中国）生物科技有限公司合成，纯度为96.29%。

选取体重相近的1日龄雄性爱拔益加（AA）肉仔鸡20只（购自山东大宝禽业有限公司），采用笼养方式饲养，饲养温度35 ℃，自然通风，相对湿度保持在55%～65%，饲喂参照NRC（1994）肉仔鸡营养需要量标准配制的基础饲粮，基础饲粮组成及营养水平见表1，自由采食和饮水。7日龄时随机分为2个组，每组10只鸡，单笼单饲，试验组肉仔鸡10日龄08:00翅静脉注射1 000.0 μg/kg BW的CRF，对照组同时注射等量的生理盐水。根据本试验中肉仔鸡体重（256~272 g），配制成1 mg/mL CRF注射液，即体重260 g的肉仔鸡注射0.26 mL CRF注射液。

表1　基础饲粮组成及营养水平（风干基础）

Table 1　Composition and nutrient levels of the basal diet （air-dry basis）　%

项目 Items	含量 Content
原料 Ingredients	
玉米 Corn	52.194
豆油 Soybean oil	5.129
豆粕 Soybean meal	38.926
石粉 Limestone	1.463
磷酸氢钙 $CaHPO_4$	0.800
氯化钠 NaCl	0.300
L-赖氨酸硫酸盐 *L*-Lys•H_2SO_4	0.267
DL-蛋氨酸 *DL*-Met	0.302
L-苏氨酸 *L*-Thr	0.099
植酸酶 Phytase (5 000 IU/g)	0.020
多维 Multi-vitamins[1)]	0.200
多矿 Multi-mineral[1)]	0.200
氯化胆碱 Choline chloride	0.100
合计 Total	100.000
营养水平 Nutrient levels[2)]	
粗蛋白质 CP	21.50
代谢能 ME/(MJ/kg)	12.81
钙 Ca	0.95
非植酸磷 NPP	0.44
赖氨酸 Lys	1.19
蛋氨酸 Met	0.59
蛋氨酸+半胱氨酸 Met+Cys	0.87
苏氨酸 Thr	0.76
色氨酸 Trp	0.22

[1)] 多维和多矿为每千克饲粮提供 Multi-vitamin and multi-mineral provided the following per kg of the diet：VA 9 000 IU，VD_3 2 000 IU，VE 11.0 IU，VK 1.00 mg，硫胺素 thiamine 1.20 mg，核黄素 riboflavin 5.80 mg，烟酸 niacin 66.0 mg 泛酸 pantothenic acid 10.0 mg，吡哆醇 pyridoxine 2.60 mg，生物素 biotin 0.20 mg，叶酸 folic acid 0.70 mg，VB_{12} 0.012 mg，Mn 100 mg，Zn 75.0 mg，Fe 80.0 mg，I 0.65 mg，Cu 8.00 mg，Se 0.35 mg。

[2)] 营养水平为计算值。Nutrient levels were calculated values.

1.2　样品采集和指标测定

统计每只鸡在注射后 2 h 内的采食量，CRF 注射 2 h 后试验组和对照组同时采集下丘脑、十二指肠、空肠、回肠分子样品，迅速放液氮中，而后置-80 ℃冰箱待测。

下丘脑、十二指肠、空肠、回肠分子样品总 RNA 的提取按照动物组织/细胞 RNA 提取试剂盒(北京康为世纪生物科技有限公司)说明书进行，提取的总 RNA 用微量紫外分光光度计（DS-11，DeNovix 公司，美国）在 260 nm 波长下检测 RNA 的浓度和纯度。

cDNA 的合成采用罗氏第一链 cDNA 合成试剂盒（Transcriptor First Strand cDNA

Synthesis Kit，Roche 公司，德国），反应体系为 20 μL，反转录反应参数为：25 ℃ 10 min；55 ℃ 30 min；85℃ 5 min。反应结束后于-20 ℃保存待用。

实时荧光定量 PCR（RT-PCR）的反应程序：第 1 步预变性 95 ℃ 10 s；第 2 步 PCR 反应 40、95 ℃ 5 s；60 ℃ 40 s。所有引物均根据 Fast Start Universal SYBR Green Master (Rox) 试剂盒要求，参照 GenBank 上已发表的序列，采用 Dnaman 5.0 设计（跨内含子），引物 DNA 由上海生工生物工程公司合成，引物序列见表 2。参照 Livak[15]等的方法用 $2^{-\Delta\Delta CT}$ 法定量目标基因 mRNA 相对表达量，以甘油醛-3-磷酸脱氢酶(GAPDH)作为参照基因进行校准。

表 2　引物序列

Table 2　Primers sequences

基因名称 Gene names	GenBank 登陆号 GenBank accession No.	引物序列 Primers sequences (5′→3′)	产物大小 Product size/bp
胃饥饿素 Ghrelin	AB075215	F：CCTTGGGACAGAAACTGCTC R：CACCAATTTCAAAAGGAACGC	203
促肾上腺皮质激素释放因子受体 1 *CRFR*1	NM_204321.1	F：CCTCACCTATTCCACCGACAAG R：GCTTCCCAAACCAGCACTTCT	134
促肾上腺皮质激素释放因子受体 2 *CRFR*2	NM_204454.1	F：TGCTCCAAATGATAGACCACAA R：AGCCTTCCACAAACATCCAGAA	117
生长激素促分泌素受体-1α *GHSR*-1*a*	AB095995.1	F：TTTTTCCTGCCCGTATTCTG R：GCTTGGTGCTGGAGAGTCTT	290
甘油醛-3-磷酸脱氢酶 *GAPDH*	NM_204305	F：ACATGGCATCCAAGGAGTGAG R：GGGGAGACAGAAGGGAACAGA	266

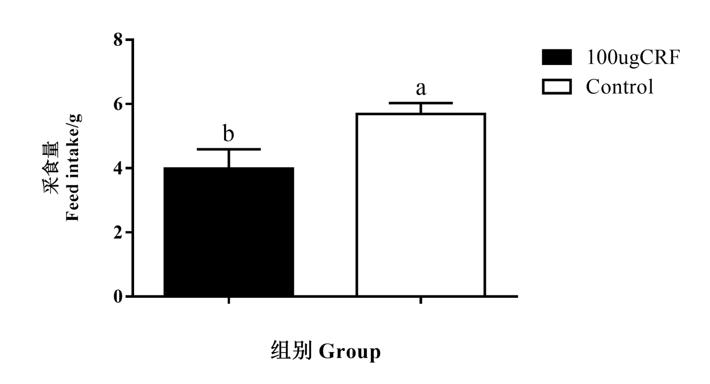
1.3　数据分析

数据统计采用 SPSS 24.0 软件进行 *t* 检验，置信区间为 95%，*P*<0.05 表示差异显著。

2　结　果

2.1　静脉注射 CRF 对肉仔鸡采食量的影响

由图 1 可知，与对照组相比，试验组翅静脉注射 CRF 在 2 h 内的采食量显著降低（*P*<0.05）。



数据柱标相同小写字母或无字母表示差异不显著(*P*＞0.05)，不同小写字母表示差异显著(*P*＜0.05)。下图同。

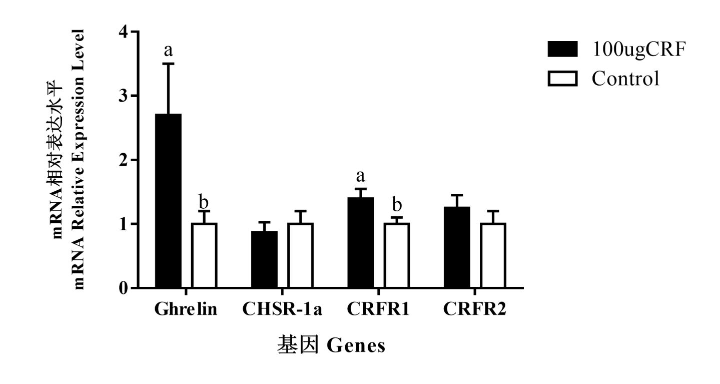
Value columns with the same small or no letters mean no significant difference (*P*＞0.05), while with different small letter mean significant difference (*P*＜0.05). The same as below.

图 1　静脉注射 CRF 对肉仔鸡采食量的影响

Fig.1　Effects of intravenous injection of CRF on feed intake of broilers

2.2　静脉注射 CRF 对肉仔鸡下丘脑和肠道中食欲调控相关基因 mRNA 相对表达量的影响

由图 2 可知，与对照组相比，静脉注射 CRF 显著升高了肉仔鸡下丘脑中胃饥饿素、*CRFR*1 mRNA 相对表达量（*P*<0.05），对丘脑中 *GHSR*-1*α*、*CRFR*2 mRNA 相对表达量无显著影响（*P*>0.05）。



Ghrelin；胃饥饿素 ghrelin；*GHSR*-1*α*：生长激素促分泌素受体-1α growth hormone secretagogue receptor type 1α；*CRFR*1：促肾上腺皮质激素释放因子受体 1 corticotrophin releasing factor receptor 1；*CRFR*2：促肾上腺皮质激素释放因子受体 2 corticotrophin

releasing factor receptor 1。下图同 The same as below.

图 2 静脉注射 CRF 对肉仔鸡下丘脑中相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig.2 Effects of intravenous injection of CRF on related genes mRNA relative expression level in hypothalamus of broilers

由图 3 可知，与对照组相比，静脉注射 CRF 显著降低了肉仔鸡十二指肠中胃饥饿素 mRNA 相对表达量(P<0.05)，显著提高了十二指肠中 *GHSR*-1*α*、*CRFR*1、*CRFR*2 mRNA 相对表达量（P<0.05)。

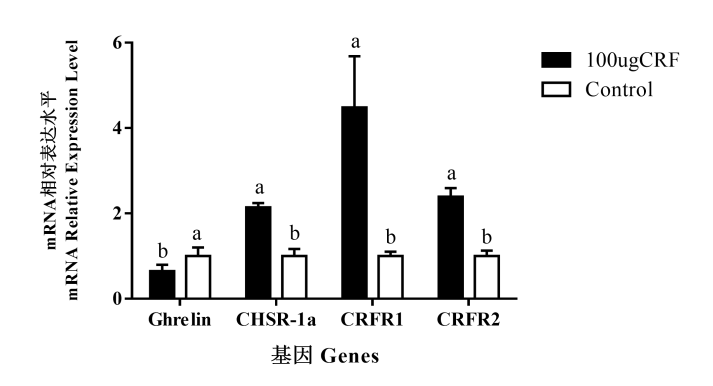


图 3 静脉注射 CRF 对肉仔鸡十二指肠中相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig.3 Effects of intravenous injection of CRF on related genes mRNA relative expression level in duodenum of broilers

由图 4 可知，与对照组相比，静脉注射 CRF 显著提高了肉仔鸡空肠中 *GHSR*-1*α*、*CRFR*1、*CRFR*2 mRNA 相对表达量（P<0.05)，对空肠中胃饥饿素 mRNA 相对表达量无显著影响（P>0.05）。

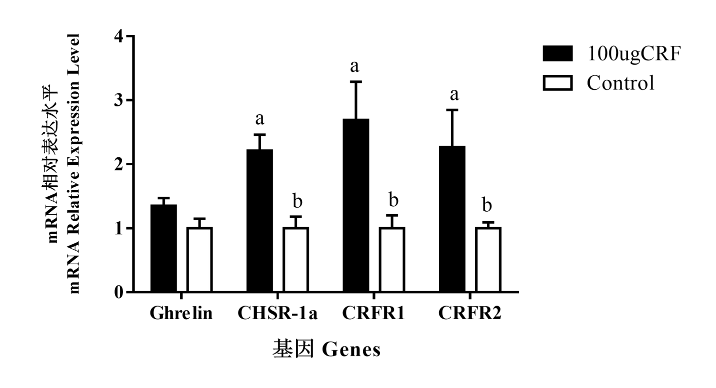


图 4 静脉注射 CRF 对肉仔鸡空肠中相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig.4 Effects of intravenous injection of CRF on related genes mRNA relative expression level in jejunum of broilers

由图 5 可知，与对照组相比，静脉注射 CRF 显著提高了肉仔鸡回肠中 *GHSR*-1*α*、*CRFR*1、*CRFR*2 mRNA 相对表达量（$P<0.05$），对回肠中胃饥饿素 mRNA 相对表达量无显著影响（$P>0.05$）。

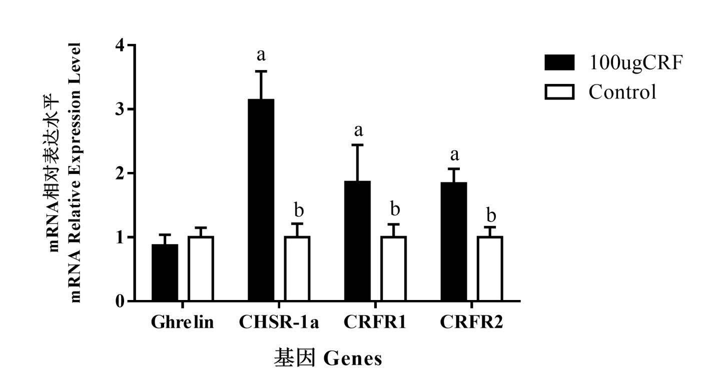


图 5　静脉注射 CRF 对肉仔鸡回肠中相关基因 mRNA 相对表达量的影响

Fig.5　Effect of intravenous injection of CRF on related genes mRNA relative expression level in ileum of broilers

3　讨　论

3.1　静脉注射 CRF 对肉仔鸡采食量的影响

CRF 在应激条件下通过调节 HPA 轴及下丘脑以外的其他 CRF 通路调节机体内分泌系统、自主神经系统、免疫系统及行为。在哺乳动物中，脑室注射 CRF 会导致采食量降低并产生焦虑行为，诱导肾上腺分泌释放糖皮质激素[16-18]。已有研究表明，CRF 系统通过中枢直接参与能量平衡的调控[19]，如果 CRF 系统发生功能性障碍则会引发病理性肥胖和进食障碍[20-22]。在家禽中，CRF 的作用与哺乳动物相似，CRF 系统在机体内环境稳态受到威胁时参与食欲及能量平衡的调控[23]。已有研究表明，CRF 是鸡应激反应的中介分子，脑室注射 CRF 导致鸡采食量下降，进而影响体增重[24]。2 日龄肉仔鸡脑室注射 CRF 后，采食量显著降低[25]。本试验中，静脉注射 CRF 显著降低了肉仔鸡采食量，与前人研究相符，证实 CRF 是肉仔鸡的一种有效抑食因子。

3.2　静脉注射 CRF 对肉仔鸡 *CRFR*1 和 *CRFR*2 mRNA 相对表达量的影响

CRF 家族包括 CRF 和尿皮素（UCN）1~3，在哺乳动物中高度保守，它们的功能由 2 个 G 蛋白偶联受体 CRFR1 和 CRFR2 介导，CRF 和 UCN3 作为多功能神经肽参与应激反应并具有降低食欲的功能[20]。应激反应包括启动、维持和恢复 3 个阶段[26]，研究普遍认为 CRF-CRFR1 系统在应激启动过程中不可获缺[27]。有研究表明，在应激反应中，CRF 可通过

CRFR1 诱导神经细胞凋亡，而 CRFR1 阻断剂 R317573 对此种凋亡具有抑制作用，因此可用于治疗应激相关性焦虑障碍[28]。本研究中，静脉注射 CRF 显著升高了肉仔鸡下丘脑、肠道（十二指肠、空肠、回肠）中 *CRFR*1 mRNA 相对表达量，提示 CRF 诱导 CRFR1 引发的焦虑障碍可能是造成肉仔鸡采食量降低的原因之一。

在小鼠上的研究表明，CRFR2 能介导 CRF 对饱腹感的影响，CRFR2 选择性拮抗剂能够剂量依赖性的逆转 CRF 对采食的影响，因而 CRFR2 拮抗剂可能对神经性厌食症具有治疗作用[29]。此外，大鼠脑室注射 CRFR2 选择性受体拮抗剂能剂量依赖性的抑制胃排空延迟，而 CRFR1 受体选择性拮抗剂则不能，说明 CRFR2 受体介导 CRF 引起胃排空延迟[30]。本研究中，静脉注射 CRF 显著升高了肉仔鸡肠道（十二指肠、空肠、回肠）中 *CRFR*2 mRNA 相对表达量，提示 CRFR2 可能通过影响饱腹感和延迟胃排空造成肉仔鸡采食量下降。

3.3 静脉注射 CRF 对肉仔鸡胃饥饿素和 *GHSR*-1*α* mRNA 相对表达量的影响

胃饥饿素是一种肽类激素，在促进垂体生长激素分泌、食欲刺激等多种生理活动中发挥重要作用[31-32]。本研究中，静脉注射 CRF 显著降低了肉仔鸡十二指肠中胃饥饿素 mRNA 相对表达量，空肠、回肠中胃饥饿素 mRNA 相对表达量无显著变化，这说明静脉注射 CRF 对胃饥饿素影响在下丘脑与肠道之间存在差异，且肠道各段响应 CRF 的阈值不同，十二指肠响应阈值更低。有研究表明，胃饥饿素对不同动物的摄食有不同的影响，胃饥饿素可促进大鼠、绵羊、金鱼和人的摄食行为，但对幼鱼和鹌鹑有相反作用[33]。哺乳动物注射胃饥饿素后，通过激活神经肽 Y（NPY）和刺鼠色蛋白相关蛋白（AgRP）造成食物摄入的增加[34]。与人和小鼠不同，鸡注射胃饥饿素后出现强烈的食欲抑制作用，且抑制效果存在剂量依赖性[35]。本研究中，静脉注射 CRF 显著提高了肉仔鸡下丘脑中胃饥饿素 mRNA 相对表达量，胃饥饿素 mRNA 相对表达量升高会降低肉仔鸡采食量，这可能是本试验中肉仔鸡采食量降低的一个重要原因。

胃饥饿素受体（GHSR）存在 GHSR-1α、GHSR-1β 2 种类型，其中 GHSR-1α为其功能型受体[36]。研究指出，大鼠切除肾上腺后的注射地塞米松（人工合成的糖皮质激素），增加了 *GHSR*-1*α*的 mRNA 相对表达量，用地塞米松对大鼠垂体细胞进行处理也引起了 *GHSR*-1*α* mRNA 相对表达量升高[37]。在科布肉仔鸡上的研究表明，胃饥饿素引起的厌食反应是由 HPA 轴激活引起的[14]。本试验中，静脉注射 CRF 显著提高了肉仔鸡肠道中 *GHSR*-1*α* mRNA 相对表达量，这可能是由于注射 CRF 后激活了 HPA 轴引起应激，刺激肾上腺皮质释放糖皮质激素，外周糖皮质激素含量升高引起 *GHSR*-1*α* mRNA 相对表达量。

4 结 论

外周静脉注射 CRF 能诱导肉仔鸡采食量降低，诱导中枢胃饥饿素的基因表达，中枢 *CRFR*1、胃饥饿素以及肠道 *CRFR*1、*CRFR*2、*GHSR*-1*a* 基因表达上调导致的食欲抑制可能是造成采食量下降的原因。

参考文献：

[1] QUINTEIRO-FILHO W M,RIBEIRO A,FERRAZ-DE-PAULA V,et al.Heat stress impairs performance parameters,induces intestinal injury,and decreases macrophage activity in broiler chickens[J].Poultry Science,2010,89(9):1905–1914.

[2] VALE W,SPIESS J,RIVIER C,et al.Characterization of a 41-residue ovine hypothalamic peptide that stimulates secretion of corticotropin and beta-endorphin[J].Science,1981,213(4514):1394–1397.

[3] LOVEJOY D A,DE LANNOY L.Evolution and phylogeny of the corticotropin-releasing factor (CRF) family of peptides:expansion and specialization in the vertebrates[J].Journal of Chemical Neuroanatomy,2013,54:50–56.

[4] SOLINAS G,SUMMERMATTER S,MAINIERI D,et al.Corticotropin-releasing hormone directly stimulates thermogenesis in skeletal muscle possibly through substrate cycling between de novo lipogenesis and lipid oxidation[J].Endocrinology,2006,147(1):31–38.

[5] BACKSTRÖM T,WINBERG S.Central corticotropin releasing factor and social stress[J].Frontiers in Neuroscience,2013,7:117.

[6] NOZU T,TSUCHIYA Y,KUMEI S,et al.Peripheral corticotropin-releasing factor (CRF) induces stimulation of gastric contractions in freely moving conscious rats:role of CRF receptor types 1 and 2[J].Neurogastroenterology & Motility,2013,25(2):190–197.

[7] LIU S,CHANG J,LONG N,et al.Endogenous CRF in rat large intestine mediates motor and secretory responses to stress[J].Neurogastroenterology & Motility,2015,28(2):281–291.

[8] CALLAGHAN B,FURNESS J B.Novel and conventional receptors for ghrelin,desacyl-ghrelin,and pharmacologically related compounds[J].Pharmacological Reviews,2014,66(4):984–1001.

[9] KOJIMA M,HOSODA H,DATE Y,et al.Ghrelin is a growth-hormone-releasing acylated peptide from stomach[J].Nature,1999,402(6762):656–660.

[10] KAIYA H,MIYAZATO M,KANGAWA K,et al.Ghrelin:a multifunctional hormone in non-mammalian vertebrates[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A:Molecular &

Integrative Physiology,2008,149(2):109–128.

[11] TINOCO A B,N SLUND J,DELGADO M J,et al.Ghrelin increases food intake,swimming activity and growth in juvenile brown trout (*Salmo trutta*)[J].Physiology & Behavior,2014,124(2):15–22.

[12] FURUSE M,TACHIBANA T,OHGUSHI A,et al.Intracerebroventricular injection of ghrelin and growth hormone releasing factor inhibits food intake in neonatal chicks[J].Neuroscience Letters,2001,301(2):123–126.

[13] KAIYA H,KANGAWA K,MIYAZATO M.Update on ghrelin biology in birds[J].General and Comparative Endocrinology,2013,190:170–175.

[14] OCŁOŃ E,PIETRAS M.Peripheral ghrelin inhibits feed intake through hypothalamo-pituitary-adrenal axis-dependent mechanism in chicken[J].Journal of Animal and Feed Sciences,2011,20(1):118–130.

[15] LIVAK K J,SCHMITTGEN T D.Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method[J].Methods,2001,25(4):402–408.

[16] HANAFUSA J,MUNE T,TANAHASHI T,et al.Altered corticosteroid metabolism differentially affects pituitary corticotropin response[J].American Journal of Physiology.Endocrinology and Metabolism,2002,282(2):E466–E473.

[17] CONTARINO A,GOLD L H.Targeted mutations of the corticotropin-releasing factor system:effects on physiology and behavior[J].Neuropeptides,2002,36(2/3):103–116.

[18] CLARK M S,KAIYALA K J.Role of corticotropin-releasing factor family peptides and receptors in stress-related psychiatric disorders[J].Seminars in Clinical Neuropsychiatry,2003,8(2):119–136.

[19] CONE R D.The corticotropin-releasing hormone system and feeding behavior—a complex web begins to unravel[J].Endocrinology,2000,141(8):2713–2714.

[20] CONNAN F,LIGHTMAN S L,LANDAU S,et al.An investigation of hypothalamic-pituitary-adrenal axis hyperactivity in anorexia nervosa:the role of CRH and AVP[J].Journal of Psychiatric Research,2007,41(1/2):131–143.

[21] YAKABI K,NOGUCHI M,OHNO S,et al.Urocortin 1 reduces food intake and ghrelin secretion via CRF(2) receptors[J].American Journal of Physiology,2011,301(1):E72–E82.

[22] ARASE K,YORK D A,SHIMIZU H,et al.Effects of corticotropin-releasing factor on food

intake and brown adipose tissue thermogenesis in rats[J].American Journal of Physiology,1988,255(3 Pt 1):E255–E259.

[23] DENBOW D M,SNAPIR N,FURUSE M.Inhibition of food intake by CRF in chickens[J].Physiology & Behavior,1999,66(4):645–649.

[24] CLINE M A,KUO A Y,SMITH M L,et al.Differential feed intake responses to central corticotrophin releasing factor in lines of chickens divergently selected for low or high body weight[J].Comparative Biochemistry and Physiology Part A Molecular & Integrative Physiology,2009,152(1):130–134.

[25] FURUSE M,MATSUMOTO M,SAITO N,et al.The central corticotropin-releasing factor and glucagon-like peptide-1 in food intake of the neonatal chick[J].European Journal of Pharmacology,1997,339(2/3):211–213.

[26] CARSIA R V,WEBER H.Dietary protein restriction stress in the domestic chicken (*Gallus gallus domesticus*) induces remodeling of adrenal steroidogenic tissue that supports hyperfunction[J].General and Comparative Endocrinology,2000,120(1):99–107.

[27] NEUFELD-COHEN A,TSOORY M M,EVANS A K,et al.A triple *urocortin* knockout mouse model reveals an essential role for urocortins in stress recovery[J].Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America,2010,107(44):19020–19025.

[28] SCHMIDT M E,ANDREWS R D,VAN DER ARK P,et al.Dose-dependent effects of the CRF_1 receptor antagonist R317573 on regional brain activity in healthy male subjects[J].Psychopharmacology,2010,208(1):109–119.

[29] PELLEYMOUNTER M A,JOPPA M,CARMOUCHE M,et al.Role of corticotropin-releasing factor (CRF) receptors in the anorexic syndrome induced by CRF[J].Journal of Pharmacology & Experimental Therapeutics,2000,293(3):799–806.

[30] MART NEZ V,TACH Y.Role of CRF receptor 1 in central CRF-induced stimulation of colonic propulsion in rats[J].Brain Research,2001,893(1/2):29–35.

[31] GUALILLO O,LAGO F,G MEZ-REINO J,et al.Ghrelin,a widespread hormone:insights into molecular and cellular regulation of its expression and mechanism of action[J].FEBS Letters,2003,552(2/3):105–109.

[32] KOJIMA M,KANGAWA K.Ghrelin,an orexigenic signaling molecule from the gastrointestinal tract[J].Current Opinion in Pharmacology,2002,2(6):665–668.

[33] KAIYA H,KANGAWA K,MIYAZATO M.What is the general action of ghrelin for vertebrates?-Comparisons of ghrelin's effects across vertebrates[J].General and Comparative Endocrinology,2013,181:187–191.

[34] SHOUSHA S,NAKAHARA K,KOJIMA M,et al.Different effects of peripheral and central ghrelin on regulation of food intake in the Japanese quail[J].General and Comparative Endocrinology,2005,141(2):178–183.

[35] SAITO E S,KAIYA H,TACHIBANA T,et al.Inhibitory effect of ghrelin on food intake is mediated by the corticotropin-releasing factor system in neonatal chicks[J].Regulatory Peptides,2005,125(1/2/3):201–208.

[36] SOARES J B,LEITE-MOREIRA A F.Ghrelin,des-acyl ghrelin and obestatin:three pieces of the same puzzle[J].Peptides,2008,29(7):1255–1270.

[37] TAMURA H,KAMEGAI J,SUGIHARA H,et al.Glucocorticoids regulate pituitary growth hormone secretagogue receptor gene expression[J].Journal of Neuroendocrinology,2001,12(6):481–485.

Effects of Corticotropin-Releasing Factor on Appetite Regulation of Broilers

ZHOU Huajin LI Hepeng ZHANG Hui WANG Jiguang SONG Zhigang*

(*College of Animal Science and Technology/ College of Veterinary Medicine, Shandong Agricultural University, Tai'an* 271018, *China*)

Abstract: This experiment used the live broilers as the object of study, intravenous injection of exogenous corticotropin-releasing factor (CFR), the changes of feed intake and the expression of appetite regulation related genes in the hypothalamus and intestine were analyzed, and to investigate the effects of CFR on the appetite regulation of broilers. Twenty 1-day-old male Arbor Acres (AA) broilers with similar body weight were randomly divided into 2 groups at 7 days of age with 10 broilers per group (one cage per broiler). At 10 days of age, broilers in the experimental group were injected 1 000.0 μg/kg BW CRF through wing intravenous and broilers in the control group were injected the same dose of saline at 08:00. After 2 h injection, the feed intake was recorded, and the mRNA relative expression level of appetite related genes in the

*Corresponding author, professor, E-mail: naposong@qq.com （责任编辑 武海龙）

hypothalamus, duodenum, jejunum and ileum were measured by RT-PCR, such as ghrelin, corticotropin releasing factor receptor (*CRFR*)1, *CRFR*2 and growth hormone secretagogues receptor-1α (*GHSR*-1*α*). The results showed that compared with the control group, intravenous injection of CRF significantly decreased the feed intake of broilers (P<0.05); significantly increased the mRNA relative expression levels of ghrelin and *CRFR*1 in hypothalamus of broilers (P<0.05), but did not affect the mRNA relative expression levels of *CRFR*2 and *GHSR*-1*α* in hypothalamus (P>0.05); significantly increased the mRNA relative expression levels of *CRFR*1, *CRFR*2 and *GHSR*-1*α* in duodenum, jejunum and ileum of broilers (P<0.05), significantly decreased the mRNA relative expression level of ghrelin in duodenum (P<0.05), but did not affect the mRNA relative expression level of ghrelin in jejunum and ileum (P>0.05). In conclusion, intravenous injection of CRF can decrease the feed intake of broilers, induce the central ghrelin gene expression, the inhibition of appetite suppression mediated by the up-regulated expression of *CRFR*1, ghrelin in the hypothalamus and *CRFR*1, *CRFR*2 and *GHSR*-1*α* genes in the intestinal tract may be the cause of the decrease of feed intake.

Key words: broilers; appetite; feed intake; CRF; ghrelin